

Iuri Augusto Limaco

**Tolerância de *Kappaphycus alvarezii* frente a
variações de salinidade, luz e temperatura em laboratório.**

Este Trabalho de Conclusão de Curso
foi submetido à Coordenação do Curso
de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau de
Licenciado em Ciências Biológicas.
Orientador: Prof. Dr. José Bonomi
Barufi

Florianópolis
2018

Limaco, Iuri Augusto

Tolerância de *Kappaphycus alvarezii* frente a variações de salinidade, luz e temperatura em laboratório. / Iuri Augusto Limaco; orientador, José Bonomi Barufi, 2018. 39 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Ficologia. 3. Macroalgas. 4. *Kappaphycus*. 5. Estresse Termohalino. I. Barufi, José Bonomi. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

Iuri Augusto Limaco

**TOLERÂNCIA DE KAPPAPHYCUS ALVAREZII FRENTE A
VARIAÇÕES DE SALINIDADE, LUZ E TEMPERATURA EM
LABORATÓRIO.**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para
obtenção do Título de Licenciado em Ciências Biológicas e aprovado
em sua forma final pela Coordenadoria do Curso de Ciências Biológicas

Florianópolis, 20 de junho de 2018.

Prof. Carlos Roberto Zanetti, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. José Bonomi Barufi, Dr.
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Leonardo Rubi Rörig, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Dedico este trabalho à minha família,
minha namorada e a todos que me
ajudaram, direta e indiretamente.

AGRADECIMENTOS

Esse é um trabalho que demorou um longo tempo para ser concluído. Talvez seja assim com os Trabalhos de Conclusão de Curso de inúmeros estudantes ao redor do mundo, e talvez assim como com tantos acadêmicos, a conclusão desse trabalho se deve à ajuda de muitas pessoas em torno de mim.

Gostaria de agradecer à minha família pela ajuda e compreensão, à minha irmã por ter me aberto esse caminho e aos amigos com quem já compartilhei preocupações, frustrações e alegrias decorrentes desse esforço. Agradeço muito ao pessoal do LAFIC, em especial à Geniane e à Danielly que estiveram ali comigo e que em momentos em que eu me encontrava esgotado mentalmente, me ajudaram a seguir em frente. Agradeço ao Eduardo por todas as dicas e incentivos dentro do Laboratório, e à todos os colegas pela gentileza com que me receberam e por toda ajuda que me deram. Agradeço muitíssimo, também, à professora Leila Hayashi e aos mestrandos e acadêmicos do LCM, por me ensinarem tanto sobre o *Kappaphycus* e por seguirem investindo esforço e estudo nesse campo.

Sou grato à minha lindinha por estar junto comigo através de tantas tardes e noites, estudando enquanto eu escrevia estas linhas e me incentivando com carinho. E por último, mas importante, ao professor José, que me convidou a passar por esta porta, me apresentou o meu chá preferido e através do exemplo e da compreensão, me mostrou tanto do que é ser pesquisador e do que é insistir e ter foco em um objetivo. Obrigado por ter mantido aberta esta porta.

Tolerância de *Kappaphycus alvarezii* frente a variações de salinidade, luz e temperatura em laboratório

Resumo

A macroalga *Kappaphycus alvarezii* tem sido cultivada como fonte de caragena, constituindo, junto com *Eucheima* spp, o grupo de macroalgas mais cultivado mundialmente e movendo um mercado bilionário. Esta macroalga, entretanto, está adaptada principalmente às temperaturas quentes e o clima frio é detrimental ao seu desenvolvimento, possivelmente inviabilizando o cultivo. No Brasil, a introdução ocorreu em 1995 no estado de São Paulo. Após anos de experimentos, foram estabelecidas estações de cultivo experimentais em diversas localidades da costa brasileira, e realizados estudos econômicos acerca da possibilidade de cultivo da alga. Na costa catarinense, entretanto, a temperatura torna-se uma dificuldade para o cultivo anual, diferentemente por exemplo da região nordeste do País. Este trabalho avaliou o estresse causado pela interação entre temperatura, salinidade e PAR, para o crescimento e saúde da alga, por um período de estresse de dois dias, e dois dias de recuperação em laboratório. Os resultados apontam que a alga resiste aos estresses pelo período analisado, embora a ampliação do alcance destes resultados deva ser analisada com muita cautela, ao levar suas conclusões a campo.

Palavras-chave: *K. alvarezii*, maricultura, choque termohalino, PAR, *in vitro*, salinidade, temperatura, Santa Catarina.

***Kappaphycus alvarezii* tolerance to salinity, light and temperature in laboratory**

Abstract

The macroalgae *Kappaphycus alvarezii* has been cultivated as a carageenan source, and alongside *Euchema* spp., it is part of the most cultivated macroalgae worldwide, moving a billionaire market. This macroalga however is adapted to mainly warm temperatures and cold climate is detrimental to its development, possibly making the cultivation unviable. In Brazil, its introduction occurred during 1995 at São Paulo state. After years of experiments, experimental facilities for cultivation were established through the Brazilian coast, and there were economic studies about the feasibility of algae farming. At Santa Catarina's coast, however, the temperature is a difficulty to a year-round farming, unlike the northeast region. This work has evaluated the stress caused by the interaction between temperature, salinity and PAR to the algae's growth and health, for a period of two days, followed by two days of recovery. The results point to a resistance in the studied period, although much caution is needed to analyse the results when taking the conclusions to the field.

Keywords: *K. alvarezii*, mariculture, thermohaline shock, PAR, *in vitro*, salinity, temperature, Santa Catarina.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Gráficos de temperatura média elaborados com os dados obtidos através do CIRAM para o ano de 2016, para a região litorânea de Florianópolis.

Figura 2 – Estrutura experimental montada na sala de mergulho, com as bandejas e cânulas de aeração.

Figura 3 – Estrutura montada para análise da absorvância de cada talo.

Figura 4 – Foto de espécimes com colorações diferentes, depois dos tratamentos.

Figura 5 – Taxa de crescimento diária (DGR) em função da interação entre PAR e Temperatura.

Figura 6 – Taxa de crescimento diária (DGR) em função da salinidade e temperatura, mostrando valores diferentes entre os tratamentos com diferentes salinidades.

Figura 7 – Taxas de transporte de elétrons (ETR) de *Kappaphycus alvarezii* em função da salinidade, com agrupamento e média de todos os tratamentos com salinidade de 18 e salinidade de 35.

Figura 8 – Gráfico do ETR em função do PAR, com todos os tratamentos agrupados em relação a essa variável categórica.

Figura 9 – Gráfico de ficocianina (mg/g^{-1}) em função da salinidade, com os tratamentos agrupados de acordo com essa variável.

Figura 10 – Gráfico de PPB ($\text{mg O}_2/\text{L}$) para os tratamentos com diferentes temperaturas.

Figura 11 – Produção Primária Bruta em função da PAR, com maior quantidade de oxigênio para as amostras sujeitas aos maiores valores de PAR.

Figura 12 – Gráfico de Fv/Fm, com o efeito da interação entre as três variáveis categóricas.

Figura 13 – Gráfico de Fv/Fm (rendimento quântico máximo) ao longo do período experimental.

Figura 14 – Peso seco da carragenana, em miligramas/gramas de peso seco, em função da interação entre Temperatura e PAR.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores médios de temperatura e salinidade para os anos de 1994 e 1995 em profundidades de 2 metros até 40 metros, coletados no litoral de Itajaí e imediações.

Tabela 2 – Condições experimentais aplicadas no cultivo de *Kappaphycus alvarezii* considerando os três tipos de variáveis categóricas, Temperatura, Salinidade e Radiação (PAR).

Tabela 3 – Resultados da Anova com os campos em negrito indicando interações significativas com um intervalo de confiança de 95% ($\alpha < 0.05$).

Tabela 4 - Resultados do teste de Correlação de Pearson entre as variáveis dependentes avaliadas em *K. alvarezii* submetida a condições de variação de temperatura, luz e salinidade.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de Variância
CIRAM – Centro de Informações de Recursos Ambientais e de Hidrometeorologia de Santa Catarina
DGR – Taxa de Crescimento Diária
EPAGRI – Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
ETR – Taxa de Transferência de Elétrons
FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
LAFIC – Laboratório de Ficologia
LCM – Laboratório de Camarões Marinhos
PAM – Fluorímetro de Amplitude Modulada
PAR – Radiação Fotossinteticamente Ativa
PC – Ficocianina
PPB – Produção Primária Bruta
UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO.....	24
1.1 - <i>Kappaphycus alvarezii</i> – taxonomia e estado da arte em Santa Catarina.....	26
1.2 - Aplicações industriais e comerciais.....	26
1.3 - Revisão climatológica e geográfica da ilha de Santa Catarina.....	27
1.4 - Objetivos.....	29
2 - MATERIAL E MÉTODOS.....	30
2.1 - Condições experimentais.....	30
2.1.1 - MATERIAL BIOLÓGICO.....	30
2.1.2 - ESTRUTURA EXPERIMENTAL.....	30
2.1.3 - DESENHO EXPERIMENTAL.....	33
2.2 - Análises fisiológicas e bioquímicas.....	35
2.2.1 - ANÁLISE DE CRESCIMENTO.....	35
2.2.2 - ANÁLISES DE FOTOSSÍNTESE.....	35
2.2.3 - ANÁLISES PIGMENTARES.....	35
2.2.4 - EXTRAÇÃO DE CARRAGENANAS.....	35
2.3 - Análises estatísticas.....	36
3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura cresceu nas últimas décadas como uma alternativa sustentável ao extrativismo marítimo. Durante e depois da Segunda Grande Guerra, os países Aliados necessitavam de produtos da algicultura, prática dominada há milênios pelo Japão e China, o que deu um impulso maior para a pesquisa e desenvolvimentos ficológicos. Apesar do crescimento econômico e técnico de países do Ocidente, a Ásia mantém a hegemonia econômica da aquicultura, produzindo a maior parte da massa úmida de algas marinhas por ano. Os dados mais recentes da FAO apontam a produção de cerca de 27,307 milhões de toneladas de algas marinhas, num valor estimado de 6,4 bilhões de dólares. A maior quantidade de massa úmida produzida pertence às espécies *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex P.C.Silvae *Eucheuma* spp., totalizando dez milhões de toneladas, produzidas com o objetivo de extrair carragenana (FAO 2016).

Embora o cultivo pioneiro ocorra nas Filipinas e na Ásia tropical e pacífico Oeste (Trono, 1992), a alga vermelha *K. alvarezii* tem sido objeto de diferentes estudos acerca da viabilidade comercial no mundo todo (Bindu, 2010; Hayashi, 2008; Santos, 2014; Goes, 2009). A alga tem sido introduzida mundialmente e obtido sucesso comercial em diferentes localidades; na Tanzânia, por exemplo, a receita proveniente da produção da alga corresponde a 99% do lucro do país com aquicultura (Bindu, 2010). Para a introdução, entretanto, são necessárias análises locais com vários enfoques. No Brasil, tem-se estudado extensivamente o potencial invasor (Araújo, 2013; Castelar, 2015), a viabilidade comercial e o potencial lucrativo (Santos, 2014), a resistência a diferentes salinidades (Reis et al., 2011; Hayashi et al., 2010), a variação temporal da taxa de crescimento com base nos fatores abióticos (Góes, 2009), e o uso como remediador em cultivo integrado com piscicultura (Hayashi, 2008).

O estudo desta espécie pode representar uma forma de suprir a demanda comercial brasileira por ficocolóides como a carregana, beneficiar as comunidades costeiras e potencialmente diminuir o impacto biológico de outras espécies, se cultivada de maneira multitrófica (Hayashi, 2008). Apesar do dano que espécimes de *Kappaphycus* tem causado no Havai através do crescimento vegetativo sobre recifes de coral (Conklin, 2005) e em algumas outras localidades onde foram introduzidos, como na Venezuela (Barrios, 2005), a alga não apresenta estruturas reprodutivas viáveis para o clima da costa catarinense, de acordo com a bibliografia estudada para sua adaptação no estado de Santa Catarina, além de chegar a parâmetros de crescimento comercialmente adequados (Nunes, 2010). Ademais, *K. alvarezii* também pode ser utilizada como um remediador ambiental por meio do cultivo multitrófico integrado com mexilhões e ostras, com potencial gerador de receita e capacidades de aproveitamento como monocultura, em ambientes em que não é possível cultivar os moluscos (Santos, 2014).

Além dos estudos econômicos e análises de risco, outros trabalhos avaliam respostas de estresse fisiológico de *K. alvarezii* frente a diferentes variáveis bióticas e abióticas, de forma isolada ou concomitante. Hayashi et al. (2011) avaliaram o desempenho da alga frente a diferentes salinidades, e as mudanças celulares decorrentes do estresse salino. Barros et al. (2006) estudaram os efeitos combinados e isolados de luminosidade, temperatura e dosagens de agentes químicos que interferem no sistema de transferência de elétron dos tilacóides, por um período de 72 horas. O trabalho evidenciou o branqueamento das algas causado pela combinação entre alta luminosidade e baixa temperatura (12°C), e através da análise do pool de plastoquinonas, o estresse causado por irradiâncias acima de 500 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, tanto em associação com as baixas temperaturas quanto isoladamente. Diferentes autores estudaram combinações de temperatura, salinidade e irradiâncias para avaliar as taxas de crescimento e sobrevivência de microalgas *in vitro* na tentativa de investigar as tolerâncias desses microorganismos às próprias condições abióticas em locais onde eles causam impacto econômico. É o caso do estudo de Kim et al. (2004) e Matsubara et al. (2007), avaliando parâmetros de crescimento e viabilidade das microalgas *Cochlodinium. polykrikoides* e *Akashiwo sanguinea*, causadoras de blooms algais nas algas do leste asiático e de danos econômicos.

Entretanto, ainda faltam dados apropriados quanto à variação das respostas fisiológicas de *K. alvarezii* frente às particularidades climáticas da costa catarinense, os quais afetam diretamente a viabilidade do cultivo da alga marinha. Por exemplo, a oscilação de temperatura associada com a ocorrência de chuvas pode resultar em impactos significativos na manutenção de um cultivo (Goes et al., 2009). A temperatura pode variar de forma local através de ondas de calor/frio, e a presença de chuvas causa o incremento no aporte de água doce do oceano, principalmente nas camadas superficiais, resultando em diminuição da salinidade da água. Assim, as algas precisam apresentar tolerância a essas oscilações para que um cultivo tenha sucesso. A radiação também pode variar de acordo com as condições climáticas, inclusive ao longo do ciclo diário. No que diz respeito à radiação fotossinteticamente ativa (PAR), ela é fundamental para a fotossíntese e fotomorfogênese, enquanto que a radiação UV possui papel de modulação (positiva ou negativa) de respostas.

1.1 - *Kappaphycus alvarezii* – taxonomia e estado da arte em Santa Catarina

A macroalga *K. alvarezii* é nativa da região do sudeste asiático e cultivada extensivamente junto com *Eucheuma* spp., com o objetivo de obter carragenanas presentes em suas paredes celulares. A avaliação do potencial financeiro bem como seu estudo taxonômico pode ser traçado a partir de Doty (1973), quando ainda era classificada como uma espécie do gênero *Eucheuma*. A espécie pertence à família Solariaceae, Ordem

Gigartinales. É de habitat variável, encontrada abaixo da linha de maré, sobre recifes de coral, substratos arenosos com corais ou rochosos. A morfologia é variável, o talo pode ser grande e bem ramificado ou ramificado de forma densa e coberto com vários ramos pequenos e espinhosos. As paredes celulares são espessas, e a medula é composta por células grandes e arredondadas (Trono, 1992).

K. alvarezii foi introduzida no Brasil no ano de 1995, na costa do estado de São Paulo, passando por um extenso período de experimentos em laboratório e cultivos experimentais (Paula et. al 1999). Desses cultivos, algumas variedades vêm sendo aproveitadas e mantidas, dentre as quais aquela designada como “Édison de Paula”, uma cepa de coloração marrom. Apesar de algumas dificuldades referentes à autorização para o cultivo, há estações de cultivo nos estados da Paraíba e do Rio de Janeiro e uma estação experimental em Santa Catarina, apoiada e mantida pelo Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) do Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina.

1.2 - Aplicações industriais e comerciais

A aplicação mais difundida para a alga é a extração da carragenana, um polissacarídeo sulfatado produzido por espécies de Rhodophyta. Esse polissacarídeo consiste principalmente em galactanas sulfatadas, unidas em unidades poliméricas de dissacarídeos que se repetem. A massa molecular desse composto varia entre 100 a 1000 kDa, e pode conter outros resíduos de carboidratos como xilose e glicose. Esse polissacarídeo pode, também, ser classificado diversas formas de acordo com a solubilidade em cloreto de potássio. Dentre as quais, as formas iota, kappa e lambda são algumas das que possuem importância comercial (Necas, 2013).

Dentre as aplicações comerciais e industriais possíveis para a kappa carragenana (majoritária em *K. alvarezii*), está o uso difundido na indústria alimentar (70 a 80% da produção mundial total é destinada a esse fim), além de um imenso potencial na indústria farmacêutica, com propriedades antitumorais, imunomodulatórias e possivelmente antivirais (Campo, 2009). Os cultivos de *Eucheuma* spp. e *Kappaphycus* spp. tem satisfeito as demandas de carragenanas mundialmente por quatro décadas, por meio da sua introdução em diferentes comunidades costeiras e avanço na pesquisa e técnicas de cultivo, fornecendo também uma alternativa sustentável ao extrativismo costeiro (Bindu et. al., 2010).

1.3 - Revisão climatológica e geográfica da Ilha de Santa Catarina

A partir dos dados obtidos junto à EPAGRI/CIRAM para o período de 2016 para a região litorânea de Florianópolis é possível inferir, inicialmente, que houve uma quantidade muito maior de chuva no verão do que no inverno, mas que os valores de temperatura e radiação diminuíram consideravelmente no período do inverno, com variação no período (Figura 1). A radiação em si chega a baixar pela metade nesses meses, o que serviu como base para os parâmetros diferenciais de radiação utilizados nos experimentos deste trabalho. A média das temperaturas médias do ar no período que corresponde ao inverno de 2016 foi de 16,32°C. A média das somas diárias da precipitação total da hora foi de 4,1mm (EPAGRI, CIRAM, 2016)

Carvalho et al. (1998) caracterizaram o perfil termohalino do Litoral Centro Norte Catarinense, no qual encontram-se as regiões de interesse para o presente trabalho. A temperatura da água do mar apresentou variação durante o período de inverno, entre valores médios de 17,81°C a 19,22°C. Os valores mínimos de salinidade detectados nessa estação indicam 26,20 para a profundidade de dois metros, superiores ao valor mínimo de salinidade do verão para a mesma profundidade, o que se explica pela maior precipitação típica do período (Tabela 1). As medições foram feitas desde profundidades de 2 metros até 40 metros, com os valores mínimos de salinidade encontrados na profundidade de 2 metros, devido à maior densidade da água salgada, tendendo a se acumular no fundo e à estratificação causada pela chuva (Katsaros, 1969).

Figura 1 – Gráficos de temperatura média elaborado com os dados obtidos através do CIRAM para o ano de 2016, para a região litorânea de Florianópolis. É possível avaliar uma queda brusca da temperatura logo pelo mês de abril, ocasionado pelas incursões de massas polares típicas do outono, associadas a períodos de céu nublado e

encoberto, mas com pouca chuva e pouca umidade atmosférica. Essas condições se repetem no inverno, nos municípios litorâneos (Monteiro, 2001).

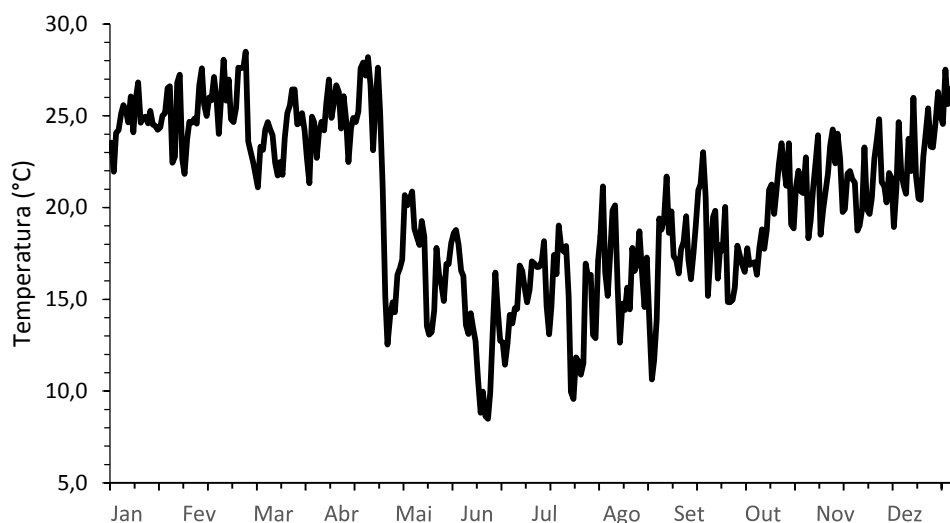


Tabela 1: Valores médios de temperatura e salinidade para os anos de 1994 e 1995 em profundidades de 2 metros até 40 metros, coletados no litoral de Itajaí e imediações (Carvalho et al., 1998).

	Z(m)	SALINIDADE (PSU-78)				TEMPERATURA (°C)			
		MIN	MAX	MÉDIA	σ	MIN	MAX	MÉDIA	σ
Primavera 94	-2	28.36	34.33	33.13	1.02	21.96	25.49	23.8	0.9
	-10	33.59	35.23	34..36	0.44	18.24	24.04	22.25	1.22
	-20	34.06	36.02	35.35	0.67	17.12	22.59	19.47	1.43
	-30	34.9	36.08	35.66	0.4	16.22	18.76	17.63	0.82
	-40	35.44	36	35.57	0.18	15.88	16.56	16.22	0.21
Verão 95	-2	24.74	35.55	31.84	2.65	23.39	26.82	25.09	0.85
	-10	32.96	35.52	34.42	0.64	24.04	25.1	24.59	0.29
	-20	34.58	35.51	35.18	0.25	24.29	24.85	24.51	0.15
	-30	35.19	35.62	35.38	0.11	24.32	25.02	24.58	0.19
	-40	33.94	25.94	35.32	0.94	18.83	21.99	20.29	1.43
Outono 95	-2	33.23	35.28	34.24	0.58	21.12	22.79	21.99	0.48
	-10	33.26	35.29	34.39	0.58	21.13	22.74	21.97	0.46
	-20	33.31	35.44	34.42	0.66	21.14	22.93	22	0.54
	-30	33.34	35.02	34.37	0.67	21.17	22.49	21.98	0.54
	-40	33.56	34.68	34.02	0.46	21.3	22.48	21.77	0.51
Inverno 95	-2	26.2	32.27	29.84	1.45	17.39	19.04	18.07	0.31
	-10	30.65	32.48	31.55	0.45	17.62	18.13	17.81	0.13
	-20	31.66	34.03	32.34	0.48	17.63	19.17	17.96	0.29
	-30	31.8	34.9	33.39	0.99	17.66	19.98	18.61	0.79
	-40	33.84	34.94	34.36	0.44	18.74	19.63	19.11	0.41

1.4 Objetivos

Este trabalho teve o intuito de avaliar a tolerância da macroalga *K. alvarezii* frente a choques termohalinos e de radiação em laboratório, por um período de dois dias. Foram realizados diferentes tratamentos para verificar o efeito da interação entre os diferentes estressores, bem como a capacidade de recuperação da alga.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – Condições experimentais

2.1.1 - MATERIAL BIOLÓGICO

A cepa de *K. alvarezii* para o presente estudo foi isolada e vem sendo mantida na Seção de Macroalgas Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) da UFSC, sob supervisão da professora Dra. Leila Hayashi. Alguns fragmentos de talos dessa cepa foram transferidos para cultivo no Laboratório de Ficologia da UFSC, no Departamento de Botânica. Seguindo o protocolo de condições de cultivo ideais de Paula et al. (2001), o material foi mantido na densidade de 7 gramas por litro, na temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, salinidade de 35 e PAR de $200 \pm 10 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A nutrição foi realizada com solução de von Stosch (Edwards, 1970) modificada por Plastino (1985) na concentração de 100%, uma vez por semana. Assim que foi cultivada a biomassa necessária, deu-se início ao experimento, com período de uma semana de aclimação. Ao final do período experimental, foram observados e tomados os devidos cuidados com o descarte das algas, mantendo os talos em álcool até o completo branqueamento antes de descartar e evitando que qualquer pedaço de alga entrasse viável na rede de esgotos.

2.1.2 - ESTRUTURA EXPERIMENTAL

O experimento foi feito com frascos de 250 mL, aerados constantemente com bombas compressoras de ar ACO-001 Boyu elétrico, com o uso de cânulas e mangueiras. Foram usados fragmentos de talos pesando aproximadamente 1g em cada frasco. As algas então passaram por um período de aclimação de uma semana nas condições de 25°C , salinidade de 35 e PAR de cerca de $500 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, na estrutura montada conforme apresentado na Figura 2. Cada conjunto de frascos foi mantido em uma estrutura básica, consistindo em bandeja, bomba aeradora dentro da bandeja, haste aquecedora de aquário ROBESBON 25w, datalogger de temperatura Pb-free RoHS compliant Maxim Integrated e os frascos contendo as algas.

Para os dados de temperatura, salinidade e radiação no trabalho, foi usado um trabalho de caracterização das águas catarinenses (Carvalho et al., 1998) e os dados do CIRAM de Santa Catarina para o ano de 2016, como referência, de forma a encontrar valores de controle e variantes. A montagem das bandejas experimentais foi na Sala de Mergulho do LAFIC. Através da iluminação e da implementação de papel alumínio na parte interna das bandejas, por trás das lâmpadas e nas paredes, foi possível chegar a valores de até $500 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Para chegar a valores referentes a 50% dessa quantidade de PAR, as bandejas experimentais submetidas à essa condição foram cobertas com sombrite. Todos tratamentos tiveram a quantidade de PAR medida com o uso de quantômetro associado ao equipamento Diving PAM (Walz, Effeltrich, Alemanha).

Para reduzir a salinidade, uma quantidade de água salgada foi diluída com água destilada até se alcançar o valor desejado. Com a finalidade de reduzir a temperatura, o ar condicionado da sala foi ajustado para 17°C . Nas bandejas cujas temperaturas deveriam ser mantidas a 25°C , foram inseridos termostatos de aquário. Os frascos foram mergulhados em água doce, a qual era aquecida pelo aparelho e mantinha-se circulando pela bandeja e esquentando os frascos uniformemente com o uso de bombas de água submersas BSBminiC220V. A temperatura dos cultivos foi monitorada tanto com o uso de termômetros quanto de dataloggers.



Figura 2 – Estrutura experimental montada na sala de mergulho, com as bandejas e cânulas de aeração. O sistema contou com o uso de três bombas de aeração distribuídas entre os 32 frascos, não mostradas na imagem, ligadas às mangueiras que, por sua vez, levavam o ar para os reguladores de pressão de forma a distribuir a aeração de forma igualitária a todos os frascos. As mangueiras foram mantidas suspensas presas por fios amarrados ao teto, de forma a mantê-las sempre retas e não cortar o fluxo de ar. Nas bandejas, é possível observar as bombas aeradoras imersas em água, para circular o líquido no qual os frascos estão imersos e uniformizar a temperatura à qual todos foram submetidos.

Diariamente, desde a aclimatação, foram feitas medidas de fotossíntese a partir da fluorescência da clorofila *a*, a partir de pulsos de amplitude modulados providos por fluorímetros do tipo PAM das algas, com o uso do equipamento Water PAM (Walz, Alemanha). A primeira medida foi realizada no período escuro de 12h do ciclo diário de iluminação, que contou com fotoperíodo de 12h, quando foi feita a segunda medida.

Para cada medição, foi retirado um pedaço aleatório de alga de cada frasco e colocado em uma placa de Petri com água salgada (ou água com a metade da salinidade, quando se tratava de um frasco testado para este parâmetro). A fibra óptica do fluorímetro foi colocada encostada à alga e o pulso de saturação disparado. Além desse mesmo procedimento, foi também medida a transmitância do talo, no caso da medida feita no período claro do fotoperíodo. Para realizar essa tarefa, a alga era colocada sobre um anteparo escuro sob uma lâmpada forte. O pedaço do talo ficava posicionado bem acima do quantômetro do aparelho Diving PAM (Waltz, Alemanha), de acordo com a Figura 3. Também foi medida a salinidade de cada frasco, utilizando um Refratômetro Analógico Brix RHB32. Com o frasco ainda aberto, foi realizada a nutrição diária de cada frasco com a aplicação de 1mL de solução von Stosch 100% modificada com o uso de uma pipeta automática.



Figura 3 – Estrutura montada para análise da absorbância de cada talo. Uma lâmpada fluorescente montada com um funil revestido de papel alumínio para fornecer e focar a luz. Embaixo, um anteparo para colocar a alga. Um ponto do anteparo é furado e, através do furo, colocado o sensor do quantômetro fixado ao fundo da bandeja por fita adesiva, de forma a medir a luz passando sem a interferência da alga e depois, medir a luz passando através da alga, de forma a comparar os valores e atingir a absorbância de cada amostra.

No fim de cada dia, com o uso do quantômetro também se verificou a quantidade de fótons à qual estavam submetidos os tratamentos, nas localizações de cada bandeja, de forma a garantir que a quantidade de luz mantivesse valores constantes durante o experimento.

2.1.3 – DESENHO EXPERIMENTAL

O número de frascos usados foi de 32, consistindo de oito tratamentos com quatro réplicas em cada um. Cada tratamento tinha sua própria bandeja, e a cada vez que foi necessário realizar alguma medição ou trabalho com os frascos, eles tiveram a localização dentro da bandeja “embaralhada”, e o mesmo ocorreu com a localização de cada bandeja individual dentro da prateleira, a fim de homogeneizar as variações de temperatura e umidade na sala.

O arranjo das bandejas consistiu de oito condições experimentais, conforme a Tabela 2 a seguir.

Tabela 2 – Condições experimentais aplicadas no cultivo de *K. alvarezii* considerando os três tipos de variáveis categóricas, Temperatura, Salinidade e Radiação (PAR). Duas variações de cada variável foram aplicadas (salinidade de 35 e 18, temperatura de 25°C e 17°C, PAR de 500 $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e de 200 $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$), totalizando oito combinações possíveis, categorizadas em “tratamentos” de 1 a 7 e em um tratamento controle. Para cada tratamento, foram usadas quatro réplicas, constituindo um total de 32 frascos com amostras experimentais.

Tratamentos	Temperatura	Salinidade	PAR
Controle	25	35	500
T1	17	35	500
T2	17	18	200
T3	25	18	500
T4	17	35	200
T5	25	35	200
T6	17	18	500
T7	25	18	200

O experimento ocorreu efetivamente durante sete dias. Na semana anterior ao experimento, os frascos haviam todos sido submetidos às condições de controle e mantidos na sala de cultivo com a estrutura montada para o trabalho, de forma a aclimatá-los. No dia inicial do experimento, os talos foram removidos dos frascos e repesados para que todos tivessem o peso uniforme de 1 grama.

No dia 3, os espécimes foram transferidos da condição controle às condições experimentais observadas na tabela 1 (sendo que uma das condições implicava em manter-se no tratamento controle) e tiveram os parâmetros de rendimento quântico efetivo e absorvância medidos duas vezes. No dia seguinte, à tarde, manteve-se o tratamento e a quantidade de medições. Na fase clara do dia 5, as condições experimentais foram mantidas e monitoradas, sendo depois desse período, todas as amostras nos tratamentos foram devolvidas ao estado inicial (condições de controle). As algas passaram o dia 6 e 7 nas condições de controle para permitir algum tempo de recuperação de um eventual estresse que pudessem ter apresentado durante o período de submissão aos tratamentos.

Na tarde e noite do dia 7 o experimento foi encerrado, com a retirada das algas. As amostras foram pesadas para medir a taxa de crescimento diária conforme Yong et al (2013). As amostras foram levadas para uma estrutura montada com lâmpadas fluorescentes, uma câmara escura e um oxímetro YSI 5000 Waiser Scientific de forma a medir as taxas de respiração e fotossíntese e medir a produção primária bruta (PPB). Foram separados pedaços de amostra para mensurar as quantidades de pigmentos fotossintetizantes e carragenanas. O detalhamento dos métodos analíticos está apresentado a seguir.

2.2 - Análises fisiológicas e bioquímicas

2.2.1 – ANÁLISE DE CRESCIMENTO

A taxa de crescimento diária foi analisada utilizando a fórmula recomendada por Yong et al.(2013): $[(\frac{W_t}{W_o})^{1/t} - 1] \times 100\%$. O cálculo da biomassa foi realizado num período de sete dias, com pesagem da biomassa fresca inicial antes do experimento e pesagem final após o término.

2.2.2 – ANÁLISES DE FOTOSSÍNTESE

A fotossíntese da alga foi acompanhada com a análise das respostas de fluorescência da clorofila a associada ao fotossistema II, utilizando fluorímetros de pulso de amplitude modulada (WaterPAM, com luz vermelha). Com o experimento em andamento, foram mensuradas as taxas de rendimento quântico máximo (Fv/Fm) e Efetivo (YII), a PAR ou FFF (Fluxo de Fótons Fotossintetizantes), e a absorvância das amostras. Dessa forma, foi possível mensurar a Taxa de Transferência de Elétrons (ETR), através da fórmula $ETR = Absorvância * Yield * PAR * 0,15$, sendo o 0,15 a proporção de fótons absorvido pelo fotossistema II no caso das Rodófitas.

2.2.3 – ANÁLISES PIGMENTARES

Usando o espectrofotômetro, foi feita a análise pigmentar de acordo com os protocolos de Beer e Eshel (1985) e de Ritchie (2006) para quantificar as ficobiliproteínas. A extração dos pigmentos foi feita utilizando uma solução de tampão fosfato 0,1 M pH 6,8. As amostras foram maceradas no nitrogênio líquido, submetidas à solução pelo período de 1h e centrifugadas por 10 minutos em 5000g em uma centrífuga Sigma G-15. Depois foram lidas no espectrofotômetro Biospectro sp 220.

2.2.4 – EXTRAÇÃO DE CARRAGENANAS

Para a extração, amostras de 0,160g de cada frasco foram submetidas a tratamento de extração em água e álcool, e o rendimento, calculado através da relação entre o peso inicial e o final das amostras. A metodologia usada foi a de Rodrigues et al. (2011), consistindo de secagem das algas em estufa a 60°C, seguido por maceração com nitrogênio líquido em almofariz e pistilo. O peso das amostras foi padronizado em 0,160g e foram colocadas em tubos falcon de 50ml contendo 6ml de água destilada. Os frascos foram então autoclavados por 1h a 121°C e antes de esfriarem, centrifugados por 10 minutos a 4000 rpm. Após a centrifugação, o sobrenadante foi retirado e transferido para outro tubo falcon de 50ml, com a adição de 18ml de álcool comercial 92,8°. As amostras foram guardadas em uma geladeira a 4°C por uma noite, e centrifugadas outra vez a 10 minutos e 4000 rpm. O sobrenadante foi retirado e descartado. Os pellets, consistindo da carragenana depositada no fundo, foram colocados em placas de petri sobre papel vegetal e secos na estufa a 60°C por 48 horas, seguindo-se por uma pesagem. Os resultados da extração foram expressos em porcentagem na análise estatística.

2.3- ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises utilizadas foram o teste de validação de Cochran, para estudar as validações preliminares de normalidade e homogeneidade de variâncias. Foi também utilizada a análise de variância (ANOVA) para avaliar o efeito dos três fatores (luz, temperatura e salinidade) isoladamente ou em interação, e o teste de correlação de Pearson. Os testes foram realizados com o programa STATISTICA 7.

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos com baixa temperatura e salinidade apresentaram, visivelmente, mudanças de coloração e de textura (Figura 4). Os talos apresentaram uma coloração verde clara quando comparada à do tratamento controle, e maior flexibilidade e inconsistência ao toque. Nenhum espécime morreu, teve perda completa de pigmentos ou apresentou perda de peso, já que todas as taxas de crescimento foram positivas, mas a mudança de pigmentação e textura remete ao experimento de Hayashi (2011), indicando desorganização de membrana dos cloroplastos e outras organelas, decorrente da turgidez do estresse osmótico.



Figura 4 – Os dois frascos à esquerda representam o tratamento controle, e os dois à direita, o tratamento 6 (17S PAR 500 18°C). As amostras desse tratamento apresentaram coloração mais clara do que os demais, e textura mais emborrachada. Nenhuma amostra apresentou ice-ice.

A variante verde de *K. alvarezii* foi estudada em condições de laboratório similares por Araújo et al. (2014). No estudo, diferentes amostras da alga foram coletadas em estações de seca e de chuva. Os espécimes então foram submetidos, em laboratório, a variações de temperatura e salinidade, de forma a testar sua resistência e plasticidade. No estudo citado, a variante verde apresentou taxas de crescimento superiores àquelas das demais variantes quando submetida às mesmas condições, em todos os casos, o que indica maior plasticidade fisiológica desta frente às mudanças citadas. Esses resultados são mais significativos, entretanto, ao analisar as interações da variante verde frente às condições experimentais, e correlacionáveis com os resultados obtidos com o presente trabalho. Entretanto, o trabalho de Araújo et al. (2014) não avaliou a capacidade de recuperação da espécie após a exposição aos tratamentos causadores de estresse fisiológico.

As taxas de crescimento diárias dos tratamentos mudaram de acordo com as interações cruzadas entre salinidade e temperatura e entre PAR e temperatura, separadamente (Tabela 3). O crescimento da espécie se apresentou mais elevado com os tratamentos de PAR 500 e temperatura de 25°C (Figura 6). No caso da interação entre salinidade e temperatura, o crescimento foi maior nas amostras que estiveram expostas salinidade de 18 (Figura 7). Ao analisar o efeito da salinidade isolado e em conjunto com os outros fatores, as algas submetidas às menores salinidades tiveram resultados superiores de taxa de crescimento do que aquelas com maior salinidade, o que é difícil de explicar frente à literatura existente (Hayashi, 2011; Reis, 2010). As algas do experimento, entretanto, respondem de maneira condizente com a literatura quanto à resposta fisiológica frente à alteração de temperatura, descrita como um fator limitante para o crescimento (Bulboa et al, 2005; Trono, 1992).

Tabela 3 – Resultados da Anova com os campos em negrito indicando interações significativas com um intervalo de confiança de 95% ($\alpha < 0.05$). DGR: Taxa de Crescimento diária. ETR: Taxa de transferência de elétrons. Os dados utilizados foram para o último dia do período de recuperação do experimento. A Temperatura e a Salinidade, isoladamente, foram as variáveis com maior influência sobre a Taxa de Crescimento. A DGR também sofreu influência conjunta da interação cruzada entre salinidade*temperatura e PAR*temperatura. Os níveis de Ficocianina foram influenciados pela salinidade. A quantidade de carragenana foi influenciada majoritariamente pela interação entre PAR*temperatura. O ETR, pela salinidade e PAR, isoladamente. O Rendimento Quântico Máximo (Fv/Fm) foi influenciado por todas as variáveis, ao que indica a tabela.

1	Sal	PAR	Temp	Sal*PAR	Sal*Temp	PAR*Temp	Sal*Temp*PAR	Erro	Total	
Grau de Liberdade	1	1	1	1	1	1	1	24	31	
DGR	SS	51.871	1.780	24.123	0.668	3.530	11.260	2.584	18.010	113.824
	MS	51.871	1.780	24.123	0.668	3.530	11.260	2.584	0.750	
	F	69.124	2.372	32.146	0.890	4.704	15.005	3.443		
	p	0.000000	0.136611	0.000008	0.354984	0.040222	0.000725	0.075837		
Ficocianina	SS	0.001936	0.000061	0.000002	0.000289	0.000042	0.000000	0.000010	0.002374	0.004715
	MS	0.001936	0.000061	0.000002	0.000289	0.000042	0.000000	0.000010	0.000099	
	F	19.5722	0.6189	0.0187	2.9246	0.4288	0.0037	0.1056		
	p	0.000180	0.439151	0.892396	0.100140	0.518828	0.951737	0.747999		
Fv/Fm	SS	0.00098	0.00014	0.00154	0.00323	0.00206	0.00205	0.00520	0.00736	0.02255
	MS	0.00098	0.00014	0.00154	0.00323	0.00206	0.00205	0.00520	0.00031	
	F	3.18	0.47	5.03	10.53	6.72	6.68	16.97		
	p	0.087078	0.498877	0.034489	0.003445	0.015998	0.016242	0.000389		
ETR	SS	23.9217	4.6100	1.8016	0.0073	0.3720	0.5364	0.2515	10.5842	42.0847
	MS	23.9217	4.6100	1.8016	0.0073	0.3720	0.5364	0.2515	0.4410	
	F	54.2433	10.4532	4.0852	0.0166	0.8435	1.2163	0.5702		
	p	0.000000	0.003544	0.054549	0.898479	0.367526	0.281025	0.457537		
PPB	SS	0.01502	0.40500	0.50669	0.61236	0.04302	0.56180	0.12169	1.38367	3.64924
	MS	0.01502	0.40500	0.50669	0.61236	0.04302	0.56180	0.12169	0.05765	
	F	0.2606	7.0248	8.7886	10.6214	0.7462	9.7445	2.1107		
	p	0.614396	0.014006	0.006750	0.003328	0.396224	0.004640	0.159221		
Carragenana	SS	0.001678	0.002481	0.004530	0.001336	0.001021	0.012433	0.000534	0.026418	0.050431
	MS	0.001678	0.002481	0.004530	0.001336	0.001021	0.012433	0.000534	0.001101	
	F	1.525	2.254	4.116	1.214	0.928	11.295	0.485		
	p	0.228852	0.146340	0.053721	0.281557	0.345113	0.002596	0.492705		

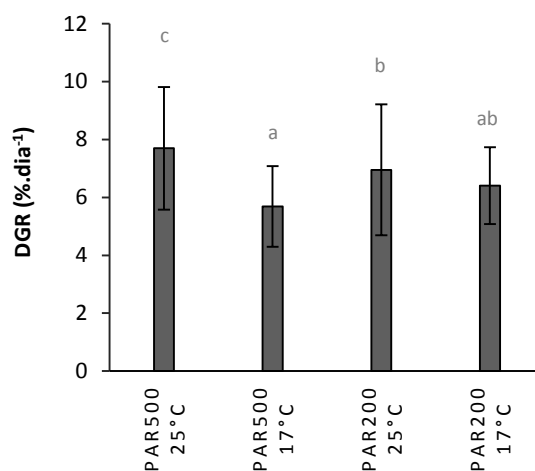


Figura 5 – Taxa de crescimento diária (DGR) em função da interação entre PAR e Temperatura. No gráfico, nota-se que os tratamentos com maior temperatura apresentaram taxas de crescimento superiores a 7% ao dia. O tratamento que apresenta maior taxa de crescimento diária é o PAR500 25°C

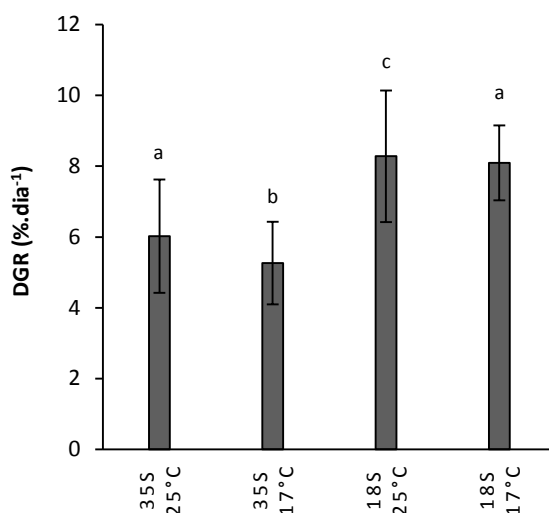


Figura 6 – Taxa de crescimento diária (DGR) em função da salinidade e temperatura, mostrando valores diferentes entre os tratamentos com diferentes salinidades. Valores maiores para S18 25°C, seguido estatisticamente por S18 17°C e S35 25°C. A menor taxa de crescimento foi devido à S35 17°C, o que indica o papel da menor temperatura como o responsável pela menor taxa de crescimento.

A taxa de transferência de elétrons (ETRs) de *K. alvarezii* foi influenciada pela salinidade e pela irradiância isoladamente (Tabela 3). As ETRs foram maiores em algas cultivadas a 35 do que em 18, e também maiores quando as algas receberam menos luz (Figuras 7 e 8). Guan et al (2013) discorrem acerca da adaptabilidade maior da alga a condições de luz relativamente fracas, apresentando uma taxa de transferência de elétrons maior quando submetida à luminosidade de $100\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, quando em comparação a algas submetidas à PAR de $200\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Entretanto, no trabalho citado, os autores discorrem acerca da plasticidade da alga a condições de luz baixa e elevada. No presente estudo a PAR reduzida a valores de cerca de 50% nas condições experimentais (correspondentes a valores de $150\text{-}200\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) podem ter estimulado a ocorrência de uma ETR maior, ou evidenciado que a adaptabilidade da alga a valores elevados de PAR é plástica o bastante para permitir uma rápida volta à funcionalidade quando devolvidas aos padrões ótimos de radiação.

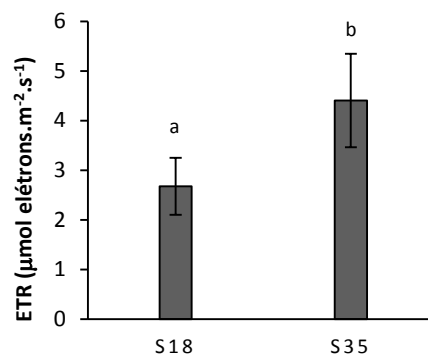


Figura 7 – Taxas de transporte de elétrons (ETR) de *K.alvarezii* em função da salinidade, com agrupamento e média de todos os tratamentos com salinidade de 18 e salinidade de 35. Pode-se atribuir valores de taxa de transferência de elétrons inferiores a 3 para os tratamentos com salinidade 18, e superiores a 4 para os tratamentos com 35 de salinidade, o que constitui também, de acordo com a análise estatística, uma diferença significativa.

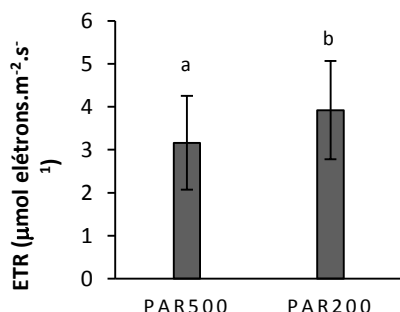


Figura 8 – Gráfico do ETR em função do PAR, com todos os tratamentos agrupados em relação a essa variável categórica. Os tratamentos com PAR de 500 μmol fótons m⁻² s⁻¹ apresentaram taxas de transferência de elétrons significativamente inferiores aos tratamentos com menor PAR.

Os valores de ficocianinas, de modo geral, apresentaram valores menores quando as algas foram submetidas à salinidade reduzida, como consequência da influência significativa do fator salinidade para quantidade de ficobiliproteínas na espécie (Tabela 3). Macler (1988) estudou a quantidade de ficobiliproteínas para a alga *Gelidium coulteri* exposta a baixas salinidades, e constatou uma redução de pigmentos fotossintetizantes em resposta a essa exposição, com perda maior durante o período inicial da exposição e tendência para estabilização ao longo do tempo. No trabalho de Araújo et al. (2014), as algas coletadas nos meses chuvosos apresentavam menor conteúdo de ficobiliproteínas do que as algas coletadas nos meses secos, reforçando a diminuição de pigmentos ocorrida com menor salinidade. Isso é explicável devido à necessidade de absorção de nitrogênio para a formação da ficocianina, assim como qualquer ficobiliproteína (Beale, 1993) e pode ser teorizado com a interferência do estresse osmótico na absorção de nitrogênio pelo organismo.

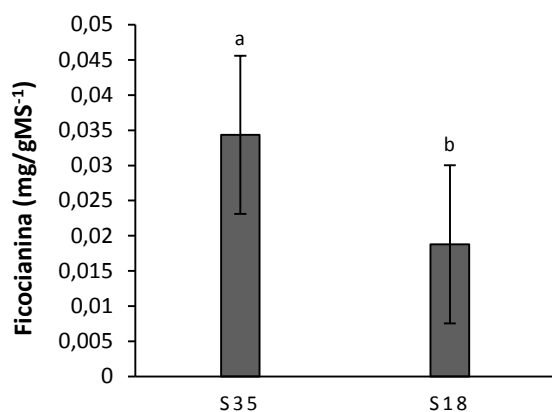


Figura 9 – Gráfico de ficocianina (mg/g^{-1}) em função da salinidade, com os tratamentos agrupados de acordo com essa variável. À esquerda, os tratamentos com maior salinidade, apresentando valores superiores a $0,03 \text{ mg mL}^{-1}$. À direita, os tratamentos com salinidade de 17, apresentando menores valores, o que indica uma correlação positiva entre ficocianina e salinidade.

A produção primária bruta foi influenciada, separadamente, pela temperatura e pelo PAR, apresentando valores menores de oxigênio para temperatura de 17°C e para a PAR 200.

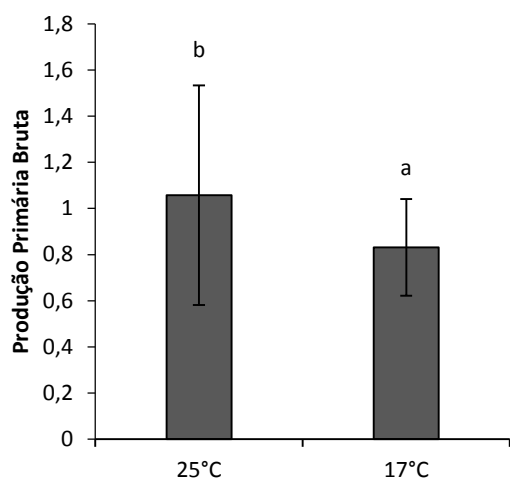


Figura 10 – Gráfico de PPB ($\text{mg O}_2/\text{L}$) para os tratamentos com diferentes temperaturas. À esquerda, todos os tratamentos com temperatura de 20°C , apresentando PPB de 1 mg de O_2 por litro. À direita, tratamentos com menor temperatura, apresentando valores perto de 0,8, o que indica uma correlação positiva entre temperatura e Produção Primária Bruta, para os valores analisados.

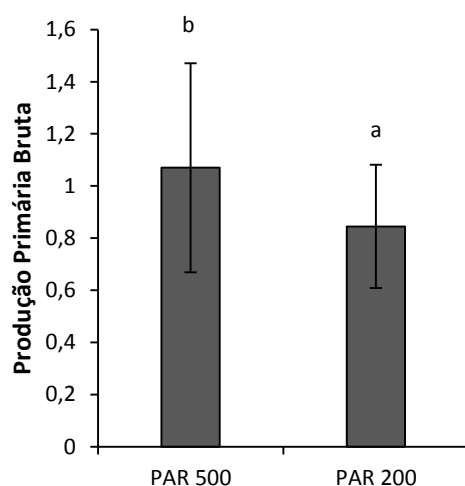


Figura 11 – Produção Primária Bruta em função da PAR, com maior quantidade de oxigênio para as amostras sujeitas aos maiores valores de PAR. À esquerda, os tratamentos estão agrupados entre aqueles com PAR de 500, e à direita, agrupados entre PAR 200. O gráfico indica uma correlação positiva entre PAR e PPB, para os valores analisados neste trabalho.

A variação do rendimento quântico máximo (F_v/F_m) pôde ser atribuída a cada variável categórica agindo em interação com as demais (Tabela 3). Na tripla interação entre as variáveis categóricas, o menor valor de F_v/F_m observado foi encontrado no tratamento de 17°C18SPAR500, com uma média de 0.54. O maior valor observado, entre 25°C18SPAR500, na média de 0.60. Aparentemente, o que separa o PAR100% de elevar a fluorescência ou reduzi-la é a Temperatura. No geral, nenhum resultado obtido das amostras com 17°C18S foi estatisticamente semelhante ao maior resultado. Entretanto, no grupo de amostras submetidas à alta temperatura, os resultados de 25°C35SPAR500 e 25°C18SPAR200 foram estatisticamente semelhantes aos menores resultados; no primeiro caso, todas as condições de temperatura e salinidade estão de acordo com as faixas preferenciais citadas para a alga pela literatura, mas o PAR500 atuaria como um estressor. No segundo caso, a conjunção entre Salinidade e PAR aparenta causar maior estresse para a alga.

Lapointe et al. (1984) fizeram um trabalho avaliando a influência da interação entre PAR e temperatura para o crescimento e fotossíntese de *Gracilaria tikvahiae*. Esses autores observaram a tendência de uma variável “compensar” a falha de outra, com influência maior da temperatura para o crescimento. Entretanto, a temperatura modifica a luminosidade para as taxas de respiração dependentes da temperatura, afetando a fotossíntese e consequentemente a curva de crescimento porque funciona como um “gatilho” sazonal, até certo ponto. Nas variações de 20°C até 30°C, no trabalho deste autor, a luz torna-se o fator mais importante.

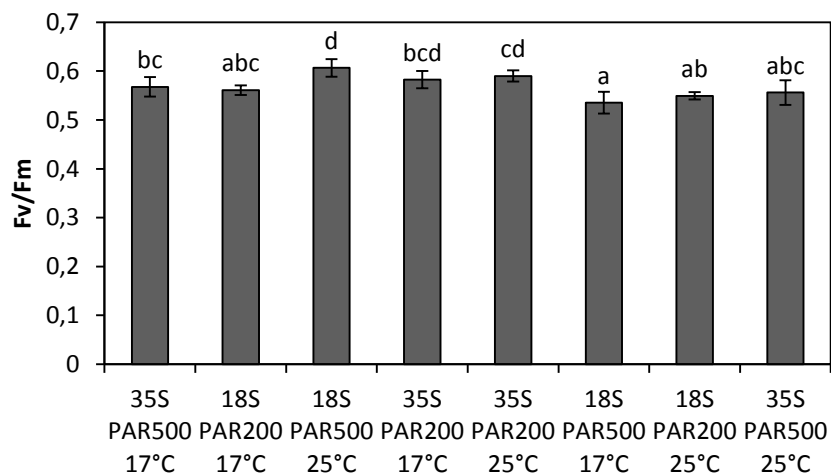


Figura 12 – Gráfico de Fv/Fm, com o efeito da interação entre as três variáveis categóricas. O menor valor observado foi o de 17S PAR200 18°C, e o maior valor, para as algas cultivadas em 17S PAR 500 25°C, com todos os demais valores apresentando pouca diferença significativa uns dos outros.

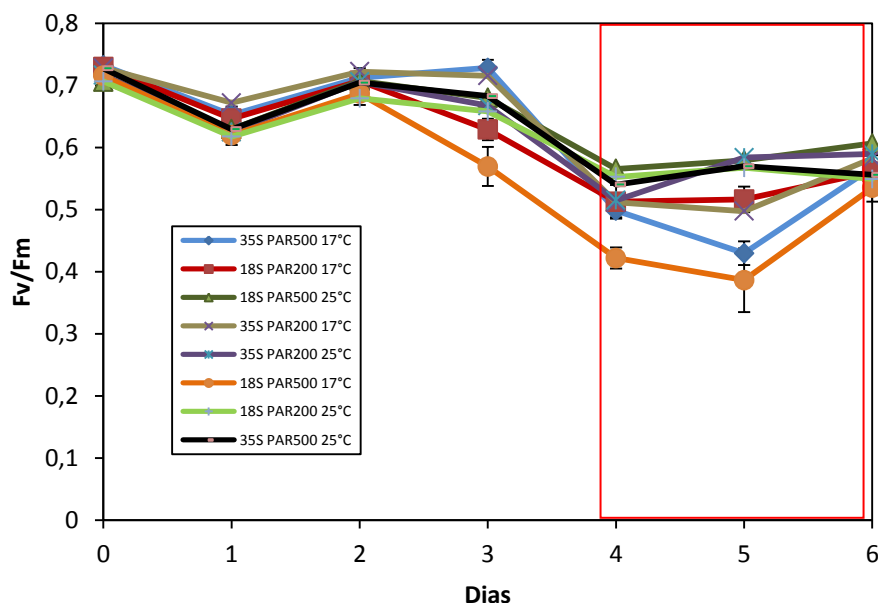


Figura 13 – Gráfico de Fv/Fm (rendimento quântico máximo) ao longo do período experimental. Cada tratamento encontra-se representado por cores e marcadores diferentes. O dia 0 marca o dia inicial do experimento. A mudança das condições de PAR, temperatura e salinidade ocorreu efetivamente na tarde do dia 3 e foi revertida na tarde do dia 5. O tratamento que apresentou maior diminuição nos dados de Fv/Fm foi o 17S PAR50018°C, com valores de rendimento que chegaram a 0,4. Entretanto, depois da interrupção das condições estressantes, todas as amostras apresentaram valores superiores a 0,5.

Os resultados de rendimento das carragenanas demonstraram influência significativa da interação entre PAR e temperatura (Tabela 3). As algas com melhor rendimento foram aquelas submetidas à 25°C PAR100%. Aquelas sujeitas 25°C PAR50% tiveram rendimento menor do que as algas em temperatura reduzida. Não foi possível encontrar bibliografia relacionando o rendimento de carragenanas à intensidade da PAR, mas os resultados parecem indicar que quantidades superiores de fótons ajudam na produção de mais carragenanas, quando a alga estiver em um meio com temperaturas de 25°C, indicando uma associação entre essa faixa de temperatura e valores de irradiância próximos a $400\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ com uma produção elevada de carragenanas.

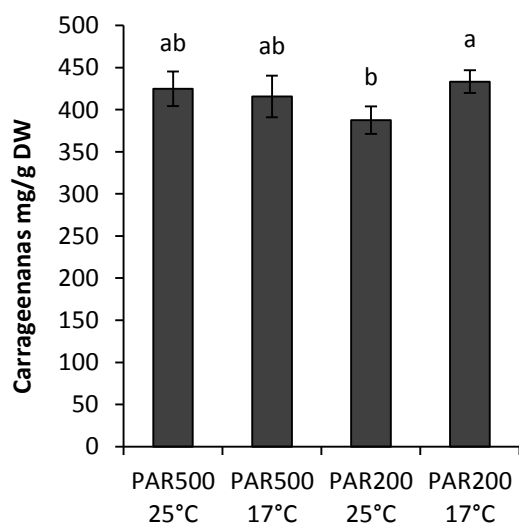


Figura 14 – Peso seco da carragenana, em miligramas/gramas de peso seco, em função da interação entre Temperatura e PAR. O tratamento que rendeu menos carragenana por peso seco foi o PAR200 25°C, com menos de 400 mg/g. Os demais tratamentos apresentaram quantidades superiores a 400 mg/g.

Os diferentes parâmetros fisiológicos avaliados em *K. alvarezii* apresentaram resultados intrigantes. Por exemplo, entre a taxa de crescimento diária (DGR) e Ficocianina (PC), foi medido uma correlação negativa, e entre a DGR e a taxa de transferência de elétrons (ETR), positiva. Os tratamentos com maior DGR tendiam então a apresentarem menor quantidade de Ficocianina e maior ETR. Entre ETR e PC, também foi verificada uma correlação negativa, o que é curioso ao se considerar o papel das ficobiliproteínas para os fotossistemas. O Fv/Fm, por outro lado, não apresentou correlação significativa com nenhuma outra variável da tabela.

Tabela 4 – Resultados do teste de Correlação de Pearson entre as variáveis dependentes avaliadas em *K. alvarezii* submetida a condições de variação de temperatura, luz e salinidade.

	DGR	Ficocianina	Fv/Fm	ETR	PPB	Carragenana
DGR						
Ficocianina	-.3497 p=.050					
Fv/Fm	.0520 p=.777	.0652 p=.723				
ETR	.6318 p=.000	-.4567 p=.009	-.1082 p=.556			
PPB	.2932 p=.103	.0588 p=.749	-.1127 p=.539	-.0514 p=.780		
Carragenana	.1432 p=.434	-.1541 p=.400	-.1120 p=.541	.0904 p=.623	.1922 p=.292	

Um fator impactante para o aumento da taxa de crescimento da variante verde de *K. alvarezii* é a baixa salinidade (18) em conjunção com a temperatura de 25°C. A temperatura de 17°C, nesse caso, está ligada a resultados mais baixos, em conjunção com quaisquer estados das outras variáveis categóricas. No caso do ETR, da mesma forma, a principal influência foi da salinidade, com maiores resultados de ETR para as menores salinidades e menor PAR, independente da temperatura. Isso parece sugerir uma maior suscetibilidade da alga à salinidade do que à temperatura, num período de menos de 72 horas, quanto ao crescimento, e um efeito compensatório de *K. alvarezii* frente à salinidade baixa em conjunto de outras variáveis em estado ótimo.

Ao mesmo tempo, na análise estatística, o rendimento de carragenanas mostra-se maior na dupla interação entre baixa temperatura e PAR, para o período do experimento. Sabendo-se através da bibliografia estudada que a alga não suporta um período maior do que 72 horas submetida à salinidade inferior ao valor estudado (Hayashi, 2011), um período de estresse de salinidade maior do que esse período seria letal aos espécimes. Também pelo trabalho de Santos, 2014, ligando a diminuição crescente da taxa de crescimento da alga à queda de temperatura e correlacionando isso aos resultados, um período maior do que o de dois dias poderia provar-se letal ao experimento.

Entretanto, o trabalho presente mostra uma resistência compensatória da alga frente algumas dessas variações, não apresentando nenhum exemplar morto ou contaminado por ice-ice, quando submetido à temperatura de 17°C, salinidades baixas e PAR de 500 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Uma das taxas de crescimento diárias mais elevadas, também, foi para os espécimes submetidos à menor salinidade associada à menor temperatura. Para compreender melhor a resistência da alga às variações climáticas seria necessário realizar diferentes experimentos, com repetição e variação de cada uma dessas condições ao longo do ritmo circadiano da alga e simulando as condições em campo, o que poderia provar-se inviável, ou analisar a resposta de exemplares *in situ*, expostos às intempéries. Ao menos é possível constatar a sobrevivência pontual por um período de dois a três dias sujeitos a essas mudanças termohalinas em laboratório.

4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

A introdução de *K. alvarezii* no cenário maricultor brasileiro deveu-se em muito à necessidade de independência da indústria de ficocolóides brasileira. Entretanto, isso é um resultado difícil de alcançar devido à insuficiência de informações para a tomada de decisão e, consequentemente, baixo cultivo da alga em comparação a outras culturas tradicionais da maricultura, como mexilhão e ostras. No Brasil, o parque aquático com melhor desenvolvimento para a aquicultura é atualmente o de Santa Catarina, responsável pela maior parte da ostreicultura no País, mas com mudanças climáticas que dificultam grandemente a algicultura da *K. alvarezii*. O estudo atual teve o objetivo de ampliar o conhecimento das resistências de *K. alvarezii* em relação a condições laboratoriais inspiradas no clima catarinense e auxiliar acadêmicos e maricultores na tomada de decisões para o cultivo e cuidados com esta cultura.

Os resultados mostram um acréscimo do teor de carragenana associado à queda de temperatura para o período estudado. Também é aparente que a taxa de crescimento não diminui tanto se o espécime é submetido à redução de temperatura junto com a de salinidade. Os resultados também mostraram uma redução no rendimento máximo em alguns tratamentos, mas prontamente recuperados em 2 dias quando devolvidos às condições controle, sem os fatores de estresse. Essas descobertas, embora interessantes, precisariam ainda ser testadas *in situ* antes de serem adequados à realidade maricultora catarinense.

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, Patrícia G. et al. Temperature and salinity responses of drifting specimens of *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales, Rhodophyta) farmed on the Brazilian tropical coast. **Journal of applied phycology**, v. 26, n. 5, p. 1979-1988, 2014.

ARAÚJO, Patrícia Guimarães. Avaliação do potencial invasor de *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) no litoral da Paraíba, Brasil. 2013. 108 f. Tese (Doutorado) - Curso de Oceanografia Biológica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013. Disponível em: <<http://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/10703>>. Acesso em: 07 jul. 2016.

BARROS, Marcelo P. et al. Kinetic study of the plastoquinone pool availability correlated with H₂O₂ release in seawater and antioxidant responses in the red alga *Kappaphycus alvarezii* exposed to single or combined high light, chilling and chemical stresses. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1757, n. 11, p. 1520-1528, 2006.

BARUFI, José Bonomi. Fotoproteção em *Gracilaria tenuistipitata* (Rhodophyta): uma abordagem fisiológica e molecular. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

BEALE, Samuel I. Biosynthesis of phycobilins. **Chemical reviews**, v. 93, n. 2, p. 785-802, 1993.

BINDU, M. S., e LEVINE, Ira. "The commercial red seaweed *Kappaphycus alvarezii*— an overview on farming and environment." *Journal of Applied Phycology* 23.4 (2011): 789-796.

BULBOA, Cristian R.; PAULA, Edison J. Introduction of non-native species of *Kappaphycus* (Rhodophyta, Gigartinales) in subtropical waters: Comparative analysis of growth rates of *Kappaphycus alvarezii* and *Kappaphycus striatum* in vitro and in the sea in south-eastern Brazil. *Phycological Research*, v. 53, n. 3, p. 183-188, 2005.

CAMPO, Vanessa Leiria et al. Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis—A review. *Carbohydrate Polymers*, v. 77, n. 2, p. 167-180, 2009.

CONKLIN, Eric J.; SMITH, Jennifer E. Abundance and spread of the invasive red algae, *Kappaphycus* spp., in Kaneohe Bay, Hawai'i and an experimental assessment of management options. *Biological Invasions*, v. 7, n. 6, p. 1029-1039, 2005.

CARVALHO, J.L.B., SCHETTINI, C.A. F., RIBAS, T.M. 1998. Estrutura Termohalina do Litoral Centro-Norte Catarinense. *Notas Téc. FACIMAR* 2:181-197.

CASTELAR, Beatriz et al. Risk analysis using species distribution modeling to support public policies for the alien alga *Kappaphycus alvarezii* aquaculture in Brazil. *Aquaculture*, v. 446, p. 217-226, 2015.

DOTY, Maxwell S. Farming the red seaweed, *Eucheuma*, for carrageenans. *Micronesica*, 1973.

EDWARDS, Peter. Illustrated guide to the seaweeds and sea grasses in the vicinity of Port Aransas, Texas. University of Texas at Austin., 1970.

FAO, 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 pp.

GUAN, Xiangyu et al. Photosystem II photochemistry and phycobiliprotein of the red algae *Kappaphycus alvarezii* and their implications for light adaptation. *BioMed research international*, v. 2013, 2013.

GÓES, Henrique Geromel de. Monitoramento da produção e do rendimento de carragenana da macroalga exótica *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex P. C. Silva e avaliação de técnicas de produção, em cultivo

comercial na Baía de Sepetiba, RJ, Brasil. 2009. 69 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Botânica, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro Escola Nacional de Botânica Tropical, Rio de Janeiro, 2009.

HAYASHI, Leila et al. A Review of *Kappaphycus* Farming: Prospects and Constraints. Cellular Origin, Life In Extreme Habitats And Astrobiology, [s.l.], p.251-283, 2010. Springer Science + Business Media. http://dx.doi.org/10.1007/978-90481-8569-6_15.

HAYASHI, Leila et al. Nutrients removed by *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) in integrated cultivation with fishes in re-circulating water. Aquaculture, [s.l.], v. 277, n. 3-4, p.185-191, jun. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.02.024>.

HAYASHI, Leila et al. Effects of salinity on the growth rate, carrageenan yield, and cellular structure of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) cultured in vitro. Journal of Applied Phycology, v. 23, n. 3, p. 439-447, 2011.

KATSAROS, Kristina; BUETTNER, Konrad JK. Influence of rainfall on temperature and salinity of the ocean surface. Journal of Applied Meteorology, v. 8, n. 1, p. 15-18, 1969.

KIM, Dae-Il et al. Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the harmful red tide dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* Margalef (Dinophyceae). Journal of Plankton Research, v. 26, n. 1, p. 61-66, 2004.

KUMAR, Manoj et al. Biochemical responses of red alga *Gracilaria corticata* (Gracilariales, Rhodophyta) to salinity induced oxidative stress. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, v. 391, n. 1-2, p. 27-34, 2010.

LAPOINTE, B. E.; TENORE, K. R.; DAWES, C. J. Interactions between light and temperature on the physiological ecology of *Gracilaria tikvahiae* (Gigartinales: Rhodophyta). Marine Biology, v. 80, n. 2, p. 161-170, 1984.

MACLER, Bruce A. Salinity effects on photosynthesis, carbon allocation, and nitrogen assimilation in the red alga, *Gelidium coulteri*. Plant Physiology, v. 88, n. 3, p. 690-694, 1988.

MATSUBARA, Tadashi et al. Effects of temperature, salinity, and irradiance on the growth of the dinoflagellate *Akashiwo sanguinea*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, v. 342, n. 2, p. 226-230, 2007.

NECAS, J.; BARTOSIKOVA, L. Carrageenan: a review. Veterinarni Medicina, v. 58, n. 6, 2013.

MONTEIRO, Maurici Amantino. Caracterização climática do estado de Santa Catarina: uma abordagem dos principais sistemas atmosféricos que atuam durante o ano. Geosul, v. 16, n. 31, p. 69-78, 2001.

NUNES, Beatriz Gomes et al. Monitoramento do ambiente do cultivo experimental da alga *Kappaphycus alvarezii* na praia de Sambaqui, Florianópolis/SC. 2010.

PAULA, Edison Jose de; ERBERT, Cintia; PEREIRA, Ricardo Toledo Lima. Growth rate of the carrageenophyte *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) in vitro. Phycological Res, [s.l.], v. 49, n. 3, p.155-161, 20 set. 2001. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1440-1835.2001.00235.x>.

PLASTINO, E.M. 1985. As espécies de *Gracilaria* (Rhodophyta, Gigartinales) da Praia Dura, Ubatuba, SP. - aspectos biológicos e fenologia. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.

REIS, Renata Perpetuo; LOUREIRO, Rafael Rodrigues; MESQUITA, Frederico Sampaio. Does salinity affect growth and carrageenan yield of *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales/Rhodophyta)? Aquaculture Research, [s.l.], v. 42, n. 8, p.1231-1234, 18 nov. 2010. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02699.x>.

RODRIGUES, José Ariévilto Gurgel et al. Carragenana da epífita *Hypnea musciformis* obtida do cultivo experimental de Solieria filiformis em Flecheiras, Estado do Ceará, Brasil. Acta Scientiarum. Technology, v. 33, n. 2, 2011.

SANTOS, A. A.. Potencial de cultivo da macroalga *Kappaphycus alvarezii* no litoral de Santa Catarina. 2014. Tese de Doutorado. CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA POTENCIAL DE CULTIVO DA MACROALGA *Kappaphycus alvarezii* NO LITORAL DE SANTA CATARINA Tese apresentada como requisito a obtenção do título de doutor em Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

TERADA, Ryuta et al. The effect of irradiance and temperature on the photosynthesis and growth of a cultivated red alga *Kappaphycus alvarezii* (Solieriaceae) from Vietnam, based on in situ and in vitro measurements. Journal of applied phycology, v. 28, n. 1, p. 457-467, 2016.

TRONO JR, C. Gavino. *Eucheuma* and *Kappaphycus*: taxonomy and cultivation. 1992.

YONG, Yoong Soon; YONG, Wilson Thau Lym; ANTON, Ann. Analysis of formulae for determination of seaweed growth rate. Journal of applied phycology, v. 25, n. 6, p. 1831-1834, 2013.